

(様式 12)

氏 名 (本籍) Kitano Flores Victor Jose (Peru)  
 学 位 の 種 類 博士 (歯学)  
 学 位 記 番 号  
 学 位 授 与 日 2019 年 3 月 14 日  
 学位授与の要件 博士の学位論文提出者 (学位規程第 1 1 条第 1 項該当者)  
 学位論文題目 Low density lipoprotein (LDL) receptor および lectin-like oxidized LDL receptor-1  
 の遺伝子改変マウスを用いた破骨細胞の細胞融合機構に関する研究  
 —Cholesterol の細胞内への取り込みに依存した ATP-binding cassette transporter  
 G1 による phosphatidylethanolamine の細胞膜外葉への局在変換は破骨細胞の  
 融合過程に関与する—  
 論文審査委員 (主査) 教授 嶋田 淳  
 (副査) 教授 羽毛田 慈之  
 (副査) 教授 友村 明人  
 (副査) 教授 小長谷 光

### 論文内容の要旨

破骨細胞の細胞融合過程は細胞外 low density lipoprotein (LDL) の状況および LDL の細胞内への取り込み機構によって大きく影響される。細胞外 LDL を認識し細胞内へ取り込む受容体である LDL receptor (LDLR) の欠損マウス (*LDLR* sKO) において、破骨細胞の細胞融合不全から破骨細胞の形成は減少する。一方、細胞外の酸化 LDL を認識する受容体 lectin-like oxidized LDL receptor-1 (*LOX-1*) single KO (sKO) マウスでは、逆に破骨細胞の細胞融合が亢進する。しかし、それらの分子機構は明らかにされていない。本研究は、それら受容体の作用機構を解明することを目的とし、*LDLR/LOX-1* double KO (dKO) マウスを作製し、*in vitro* の破骨細胞形成系から解析した。

*LDLR/LOX-1* dKO 破骨細胞前駆細胞から *in vitro* で形成された破骨細胞数は野生型 (WT) 破骨細胞前駆細胞からのそれと同等であった。また、TRAP, cathepsin K などの破骨細胞分化関連分子の mRNA 発現パターンも WT マウスと同等であった。しかし、形成された *LDLR/LOX-1* dKO 破骨細胞の面積および細胞融合頻度を表す fusion index は WT 破骨細胞に比べ大きく減少した。このことは *LDLR/LOX-1* dKO は、*LDLR* sKO と同様の機構から破骨細胞の細胞融合が阻害されることを示している。

細胞膜の脂質二重層内葉に多く分布する phosphatidylethanolamine (PE) の脂質二重層外葉への局在変換が破骨細胞の細胞融合に重要な役割を持つ。そこで、破骨細胞形成過程における PE の分布を *LDLR/LOX-1* dKO および *LDLR* sKO と WT マウスで比較した。WT 破骨細胞系細胞は細胞膜周囲に多数の filopodia を有し、それら filopodia を介して隣の破骨細胞系細胞と接触し、それら filopodia の細胞膜外葉に PE が多く分布していた。しかし、*LDLR* sKO および *LDLR/LOX-1* dKO 破骨細胞系細胞では、filopodia の細胞膜外葉 PE 分布変換が大きく減少し、その分布変換を触媒する ATP-binding cassette transporter (ABC) G1 の mRNA 発現量も大幅に減少した。これらの結果から、*LDLR* sKO および *LDLR/LOX-1* dKO 破骨細胞の細胞膜外葉 PE 分布減少は ABCG1 発現減少に起因することが考えられた。さらに、WT および *LOX-1* sKO の破骨細胞系細胞は中性脂肪および cholesterol を染色する Oil Red O に positive な小胞を多数観察したが、*LDLR* sKO 破骨細胞系細胞では Oil Red O 陽性の小胞は認められなかった。最後に、*Abcg1* siRNA で *Abcg1* mRNA 量を減少させると破骨細胞形成、破骨細胞サイズおよび fusion index ともに大きく減少した。一方、破骨細胞分化関連分子の mRNA 発現には影響を及ぼさなかった。

### 論文審査および試験結果の要旨

本論文は、LDLR を介する cholesterol の細胞内への取り込みに依存した *Abcg1* 発現によって、PE の細胞膜外葉への局在変換が起こり、破骨細胞の融合が進行することを示した。これらの結果は、LDL の細胞内への取り込みが細胞膜外葉と内葉のリン脂質分布を変化させ、結果的に破骨細胞の細胞融合を大きく調節するといった新規の破骨細胞形成制御機構を示すものである。本学大学院歯学研究科歯学専攻 Victor Jose Flores Kitano に対する最終試験は、2018 年 12 月 21 日、主査 嶋田 淳教授、副査 羽毛田慈之教授、友村 明人教授、小長谷 光教授により、主論文の内容に関し種々の事項について口頭試問を実施し、合格と判定した。また、Victor Jose Flores Kitano の語学試験は大学院入学時の語学筆記試験の結果をもって合格とした。よって、申請者：Victor Jose Flores Kitano は、博士 (歯学) の学位を授与されるに値するものと判断した。